Aus dem Pharmakologischen Institute der
Universität Freiburg i. Br.

Untersuchungen über die kombinierte Wirkung von Metallsalzen und Farbstoffen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der

Medizinischen Doktorwürde

Vorgelegt der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwig-Universität

zu

Freiburg im Breisgau

von

Ludwig Hassencamp
Med. Prakt.

aus

Windecken (Regbz. Cassel)

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Hammerschlag & Kahle
Freiburg im Breisgau
1914.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
Universität Freiburg i. Br. vom 2. Mai 1914.

Dekan:
Geh. Hofrat Prof. Dr. Hoche.

Referent:
Prof. Dr. W. Straub.

Meinem lieben Vater.

Inhalt

Seite

Einleitung und Fragestellung 5

I. Versuchsanordnung 8

II. Die kombinierte Wirkung von Silbernitrat und Methylenblau 11

III. Die kombinierte Wirkung von Kupfersalzen und Methylenblau 25

Zusammenfassung der Ergebnisse 31

Einleitung und Fragestellung.

Auf Grund der Vorstellungen P. Ehrlichs sind neuerdings von verschiedener Seite therapeuthische Versuche mit Combinationen von Metallen (Mettaloiden) und gewissen „Geleitsubstanzen" in erster Linie Farbstoffen, angestellt worden. Hier sei nur auf die folgenden Publikationen hingewiesen:

Wassermann [1]) verwandte eine Verbindung von Eosin und Selen bei Mäusekarzinomen, an welchen er unter intravenöser Behandlung der Tiere eine Rückbildung konstatieren konnte. (P. Ehrlich und seine Schüler [2]) wandten Arsenverbingungen kombiniert mit Farbstoffen an bei Trypanosomenerkrankungen. Edelmann und v. Müller [3]) und auch Saphier und Zumbusch [4]) berichten über Erfolge mit einer von E. Merk, Darmstadt hergestellten Methylenblau-Silberverbindung bei septischen Prozessen. v. Linden [5]) konnte experimentelle Tuberku-

[1]) A. v. Wassermann, F. Keysser u. M. Wassermann: Beiträge zum Problem: Geschwülste von der Blutbahn aus therapeutisch zu beeinflußen. Deutsche Med. Woch. 1911, Seite 2389.

[2]) P. Ehrlich, Beiträge zur exp. Pattol. u. Chemotherapie. Leipzig 1909, S. 111.

[3]) A. Edelmann u. A. v. Müller-Deham. Neue therapeutische Versuche bei allgemeinen u. lokalen Infektionen. Deutsche Med. Woch. 1913, Seite 2292.

[4]) I. Saphier u. L. v. Zumbusch. Ueber die Behandlung von vereiterten Bubonen mit dem von Edelmann und v. Müller angegebenem Methylenblau-Silber ibidem 1913, S. 2350.

[5]) v. Linden. Weitere Erfahrungen mit der Chemotherapie der Tuberkulose. Münch. Med. Woch. 1912, S. 2560. Dieselbe. Versuche zur Feststellung der Affinität u. Giftigkeit von Kupfer- und Methylenblausalzen für den Tuberkelbacillus. Ibid. 1914, S. 586.

lose an Meerschweinchen mit Methylenblau und Kupfer, welche in Kombination im Tierversuch zuerst von Sellei [1]) geprüft wurden, günstig beeinflussen.

Bei dem hohen Interesse, welches diesen Untersuchungen von klinischer Seite entgegengebracht wird, erschien es uns nicht unwichtig, festzustellen, ob bei Verwendung derartiger Kombinationen die Wirkungsintensität der einzelnen Komponenten sich verschiebt, d. h. ob die Komponenten sich in ihrer Wirkung lediglich addieren, ob sie sich antagonistisch oder synergistisch beeinflussen. Ohne weiteres voraussehen läßt sich, trotz der Behauptung von Bürgi [2]) das Verhalten derartiger Kombinationen nicht, wie dies in zahlreichen Arbeiten namentlich von Führer, [3]) Kochmann, [4]) Woker [5]) u. a. gezeigt wurde.

Als Produkte für unsere Versuche wählten wir das zuerst von Ehrlich und Gutmann [6]) bei Malaria als Heilmittel versuchte Methylenblau in Form des Nitrats und zur Kombination mit demselben Silber- und Kupfersalze. Es schien uns besonders wichtig festzustellen, ob bei der Prüfung dieser Substanzen eine Veränderung der

---

[1]) I. Sellei. Die Wirkung der Farbstoffe in Verbindung mit Giften und Arzneimitteln. Medizin. Klinik 1912, Nr. 45 und Biochem. Zeitschr. Bd. 47, S. 268.

[2]) E. Bürgi. Die Wirkung von Narkoticacombinationen. Deutsch. Med. Woch. 1910, S. 62, und viele weitere Arbeiten.

[3]) H. Führer. Pharmakol. Untersuch. über die Mischnarkose. Münch. Med. Woch. 1911, S. 179. Ferner Arbeiten über den Synergismus von Giften im Archiv für exper. Pathol. u. Pharmakol. 1912 u. 1913.

[4]) M. Kochmann, Beiträge zur Pharmakologie der Mischnarkose. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therapie Bd. 12, S. 328 (1913) u. weitere Publikationen.

[5]) G. Woker. Theoretisches über die Mischnarkose. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 15, S. 49 (1913) und weitere Publikationen.

[6]) P. Guttmann und P. Ehrlich. Ueber die Wirkung des Methylenblau bei Malaria, Berliner klin. Woch. Nr. 39, (1891).

Wirkungsintensität an einzelligen Organismen sich zeigt, da an solchen Objekten am besten Antagonismus und Synergismus im engeren Sinne sich nachweisen läßt, während bei höheren Tieren, von Wassertieren (Kaulquappen, Fischen) abgesehen, die Verhältnisse durch Resorption und Ausscheidung der zu untersuchenden Substanzen kompliziert und verdunkelt werden. Wir wählten daher zu unseren Versuchen bequem zugängliche Süßwasserinfusotien, an denen auch schon von anderer Seite Versuche mit Giftkombinationen ausgeführt worden sind. Erwähnt seien hier diejenigen von Hausmann und Kolmer,[1]) ferner von Szücs und Kisch[2]) an Paramaecien und Colpidien mit Eosin und Methylenblau in Kombination mit Alkohol, von Breslauer und Wokker[3]) mit Narkotikakombinationen, von Bichniewicz,[4]) die u. a. Kupfersulfat mit Chinin kombinierte und endlich solche von Weyland und Wocker[5]) mit Methylenblau-Chinin etc. Zahlenmäßig festgestellt ist indess in diesen Untersuchungen nicht, in wieweit bei Kombination bestimmter Konzentrationen Veränderung der Wirkungsstärke stattfindet. Solches auch nur an den genannten wenigen Substanzen und an einem einzigen Versuchobjekt auszuführen, erschienen uns vor allem wichtig.

[1]) W. Hausmann und W. Kolmer. Ueber die sensibilisierende Wirkung pflanzlicher und tierischer Farbstoffe auf Paramaezien. Biochem. Zeitschr. Bd. 15, S. 12 (1909).

[2]) I. Szücs und B. Kisch. Ueber die kombinierte Wirkung von fluoreszierenden Stoffen und Alkohol. Zeitschr. f. Biologie Bd. 58, S. 558 (1912).

[3]) A. Breslauer und G. Woker. Ueber die Wirkung von Narkotikakombinationen auf Kolpidium colpoda. Zeitschr. f. allgem. Physiolog. Bd. 13, S. 282 (1912).

[4]) S. Bichniewicz. Die Beeinflußung der Giftigkeit des Chinins durch Fremdstoffe gegenüber Kolpidium colpoda. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 15, S. 133 (1913).

[5]) G. Woker. Theoretisches über die Mischnarkose. Allgem. Zeitschr. f. Physiol. Bd. 15, S. 49 (1913).

I. Versuchanordnung.

Die als Versuchsobjekt gewählten Infusorien entnahmen wir einer im pharmakol. Institut seit Jahren weitergezüchteten Kultur, die in der Hauptsache Paramaecien und Colpidien enthielt. Von ihr ausgehend, wurden in der Weise, wie dies Neuhaus [1]) beschreibt vier neue Kulturen angelegt. In diese Kulturen wurden abwechselnd etwa alle drei bis vier Tage in Gaze eingepackte, abgekochte Salatblätter eingehängt und so eine stets reichliche Vermehrung der Infusorien erzielt. Zu den Versuchen wurden immer aus mehreren Kulturen Paramaecien entnommen und gemeinsam der Untersuchung unterworfen. Die gleichzeitig vorhandenen Colpidien wurden bei den Versuchen nicht berücksichtigt, da sie weniger gut vergleichbare Werte bei der Vergiftung ergaben.

Von den Giften, deren kombinierte Wirkung wir untersuchen wollten, von Methylenblaunitrat, Silbernitrat, Kupferchlorid und Kupfersulfat, stellten wir uns zunächst folgende Lösungen mit destilierten Wasser her:

Methylenblaunitrat	1 : 100
Silbernitrat	1 : 100
Kupferchlorid	1 : 100
Kupfersulfat	1,5 : 100

Die 1,5 %ige Kupfersulfatlösung wurde gewählt, weil sie aequimolekulare Mengen Kupfer enthält mit der 1 %igen Kupferchloridlösung. Die viel niedrigeren Konzentrationen, die wir zu unseren Versuchen benötigten, mußten wir mit Brunnenwasser herstellen, da Paramaecien durch destiliertes Wasser geschädigt werden. Bei der

[1]) H. Neuhaus. Versuche über die Gewöhnung an Arsen, Antimon, Quecksilber u. Kupfer bei Infusorien. Archives internationales de Pharmakodynamie et de Therapie Vol. 20, 393 (1910).

Silbernitratverdünnung wurde dadurch sicher der größte Teil des Nitrats in das schwer lösliche Chlorid, zum Teil auch in Carbonat übergeführt, sodaß wir die Paramaecien jedenfalls nicht mit reinem Silbernitrat, sondern in erster Linie mit Chlorsiber [1]) vergifteten, welches in Wasser teils in Lösung, teils in feinster Suspension enthalten war. Da wir aber nur Vergleichswerte wünschten bei Parallelversuchen, war dieser Umstand ohne Belang.

Unsere Versuche setzten wir in der Weise an, daß wir von den zu untersuchenden Substanzen uns jeweils zwei passend gewählte Verdünnungen herstellten, von denen die zweite jeweils eine zehnfache Verdünnung der ersten darstellte. Von diesen Verdünnungen wurden aus Tropfgläsern absteigende Tropfenzahlen in eine Reihe von Uhrschälchen eingetropft und zwar von jeder Konzentration 10, 8, 6, 4, 2 Tropfen. In jedem Schälchen wurde die Tropfenzahl mit Brunnenwasser auf zehn Tropfen ergänzt und gut umgeschüttelt. Auf diese Weise erhielten wir jeweils eine fortlaufend absteigende Reihe von Giftmengen in konstanter Flüssigkeitsmenge. Die schwächere der beiden Ausgangskonzentrationen wurde jeweils so gewählt, daß mit ihr die Grenze der Wirksamkeit erreicht wurde. Diese Konzentrationen betrugen für Methylenblau 1 : 1000 und 1 : 10,000
für Silbernitrat 1 : 100,000 und 1 : 1000,000
für Kupferchlorid 1 : 10,000 und 1 : 100,000
für Kupfersulfat 1,5 : 10,000 und 1,5 : 100,000.

Die zu prüfenden Mischungen wurden jeweils erst in den Uhrschälchen hergestellt. Die Summe der darin vereinigten Tropfenzahlen wurde wieder zu 10 Tropfen ergänzt.

---

[1]) Die starke Giftwirkung des wenig löslichen Chlorsilbers hat O. Gross in seinen Versuchen über Desinfektion gezeigt. Münch. Med. Woch. 1911, S. 2659 u. ff.

Die zu verwendende Kultur wurde aus verschiedenen Kulturflaschen ebenfalls in einem Tropfenglas gesammelt und davon unter gutem Umschütteln den Schälchen je vier Tropfen zugetropft, damit möglichst gleich alle Infusorien mit dem Gift in Berührung kamen.

Die Toxicität der einzelnen Substanzen, isoliert und kombiniert, ließ sich am besten in der Weise übersehen, daß wir die Ergebnisse der einzelnen Versuche in Form vergleichbarer Kurven wiedergaben. Die absteigenden Tropfenzahlen wurden auf der Ordinatenaxe eingetragen in möglichst der Abnahme der Giftmenge entsprechenden Abständen. Die absoluten in den Tropfen enthaltenen Giftmengen sind jeweils nebenbei in Klammer angegeben. (Ein Tropfen unserer Tropfgläser entsprach 0,06 g). Auf der Abszissenaxe wurde die Zeit eingetragen. Die stärkste Konzentration und die Zeit 0 liegen an dem Schnittpunkt der beiden Axen. Als Kriterium der Toxicität der absteigenden Giftmengen verwandten wir die Absterbezeit (die Zeit zwischen Vergiftung und der von Neuhaus). In der Regel wurden nicht alle 10 Abtötungszeiten zur Herstellung der Kurven verwandt, sondern nur der zur Demonstration des Ergebnisses geeignetste Teil der Reihe.

Die sehr wechselnden und abenteuerlichen Kurven, die wir anfangs bei diesen Versuchen im Tageslicht erhielten, zeigten uns, daß störende Faktoren im Spiele waren, die wir ausschalten mußten. Als einen solchen stellte sich zunächst das wechselnde Tageslicht heraus. Die hohe Bedeutung des Lichtes bei Vergiftung von Infusorien mit Farbstoffen ist seit Tappeiners und Jodlbauers[1]) Arbeiten bekannt. Bei unseren Versuchen zeigte sich daß aber auch in ähnlicher

[1]) K. v. Tappeiner und A. Jodlbauer, Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Leipzig 1907

Weise die Wirkung des Silbernitrats und der Kupfersalze von der Intensität des Lichtes abhängt. Dieser variable Faktor des Tageslichtes wurde zu einem konstanten gemacht, indem wir die Versuche in der Dunkelkammer bei Beleuchtung mit einer, an der Decke angebrachten 1000 Kerzen starken Nernstlampe anstellten. Zweieinhalb Meter unter dieser erhielten wir so auf dem mit weißem Papier belegten Versuchstisch einen qm Fläche, auf dem wir unter stets gleichen Bedingungen bei diffusem Lichte unsere Versuche anstellen konnten. (Die an verschiedenen Stellen des Arbeitsplatzes mit Wynne's Infallible gemessene Lichtstärke war praktisch überall dieselbe). Ein zweiter störender Faktor war zu Anfang der Eisengehalt des Leitungswassers, der unsere Kurven stark beeinflußte. Er ließ sich ausschalten durch Verwendung von Verdünnungswasser aus gut (1/2 Stunde) abgelaufenen Röhren. Nach Ausschaltung dieser beiden Faktoren erhielten wir stets glatte, konstante Kurven.

II. Die kombinierte Wirkung von Silbernitrat und Methylenblau.

Der bisher noch unbekannten Abhängigkeit der Silberwirkung von der Belichtung widmeten wir einige Nebenversuche. Es wurden von den zwei Silbernitratverdünnungen 1:100,000 und 1:1,000,000 drei Schalenreihen à 10 Schälchen in der oben beschriebenen Weise angesetzt und eine Schalenreihe dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. (Diesem Versuche entspricht die Kurve a in Fig. 1). Die zweite Schalenreihe wurde unter der Nernstlampe in der Dunkelkammer angesetzt (Fig. 1, Kurve b). Die dritte darauf ebenfalls in der Dunkelkammer bei rotem Licht (Fig. 1, Kurve c). Die

Differenz der drei Kurven ist eine sehr bedeutende. Wir sehen wie z. B. 8 Tropfen der Silbernitratverdünnung 1:1,000,000 = 48 × 10^{-8} g, Substanz) im direkten Sonnenlicht in 20 Min. wirken, während dieselbe Giftmenge unter der Nernstlampe in 45 Minuten und bei rotem Licht erst in 1 1/2 Stunde abtötet. Oder wir sehen 4 Tropfen derselben Verdünnung (= 24 × 10^{-8} g. Substanz) bei direktem Sonnenlicht in 1 1/2 Stunden, unter der Nernstlampe in 3 Stunden abtöten, während dieselbe Giftmenge im roten Lichte unwirksam ist. Die drei verschiedenen Lichtintensitäten entsprachen folgenden Aktinometerzeiten: Bei direktem Sonnenlicht 1—2 Min. unter der Nernstlampe 1 1/2—2 Stunden, bei rotem Licht unendlich.

Die gefundene große Differenz obiger Kurven ergab die Frage, ob diese verschiedene Wirkungsweise mit der Reduktion des Chlorsilbers bezw. Silbernitrats in Zusammenhang zu bringen sei.

Um dies zu untersuchen, wurde der folgende vierfache Versuch ausgeführt: Eine Schalenreihe a. wird in der Dunkelkammer mit Silbernitrat und Kultur versehen und dann dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. Sind es gerade die chemischen Umsetzungen, welche den Paramaecien schädlich sind, so muß in diesen Schalen die rascheste Wirkung eintreten. Eine Schalenreihe b. und c. wird eine Stunde im direkten Sonnenlicht exponiert. [1]) Die Reihe b. bleibt im Tageslichte stehen und erhält die Kultur zugesetzt; hier wirkt also das reduzierte Silber. Der ebenfalls dem Tageslichte exponierten Reihe c. wird in der Dunkelkammer bei rotem Licht die Kultur zugesetzt und beobachtet zugleich mit einer Schalenreihe d., die in der Dunkelkammer mit

[1]) Um die Schalen vor Verdunstung zu schützen, wurden sie zusammen mit feuchtem Filtrierpapier unter eine Glasglocke gebracht.

Fig. 1.

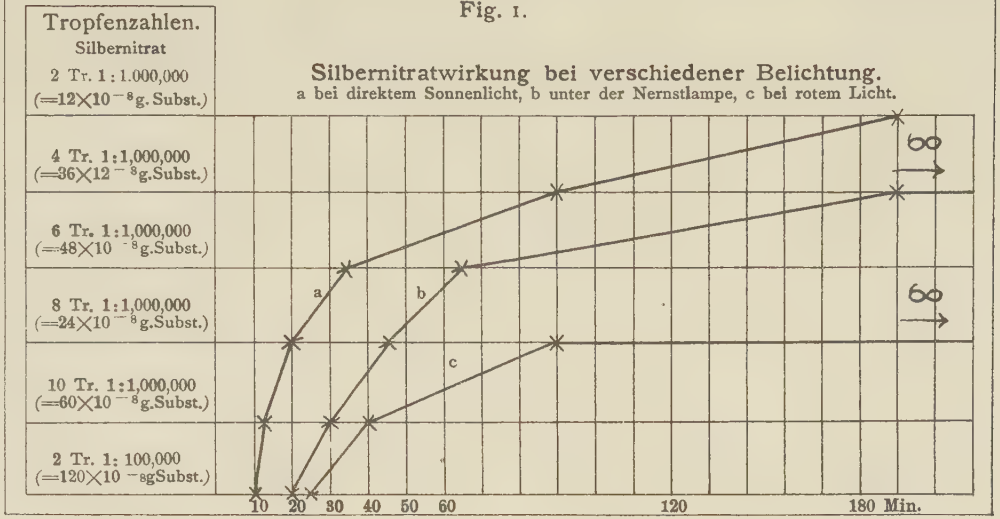
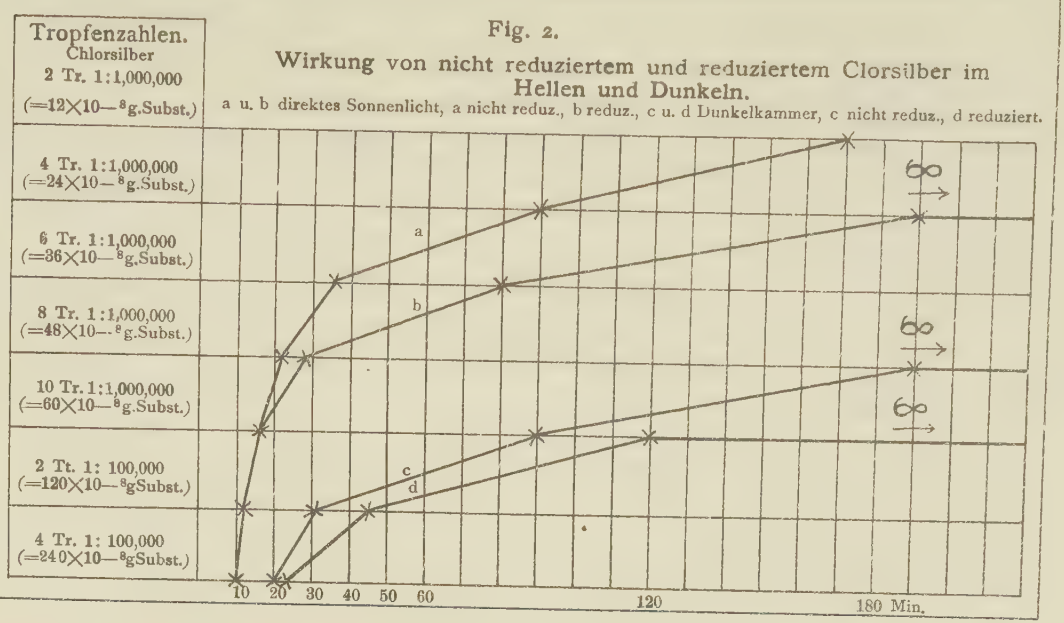

Tropfenzahlen.
Silbernitrat
2 Tr. 1 : 1.000,000 (=12×10⁻⁸g. Subst.)
4 Tr. 1:1,000,000 (=36×12⁻⁸g.Subst.)
6 Tr. 1:1,000,000 (=48×10⁻⁸g.Subst.)
8 Tr. 1:1,000,000 (=24×10⁻⁸g.Subst.)
10 Tr. 1:1,000,000 (=60×10⁻⁸g.Subst.)
2 Tr. 1: 100,000 (=120×10⁻⁸gSubst.)
Silbernitratwirkung bei verschiedener Belichtung.
a bei direktem Sonnenlicht, b unter der Nernstlampe, c bei rotem Licht.
a
b
c
∞
∞
10 20 30 40 50 60 120 180 Min.

Fig. 2.

Wirkung von nicht reduziertem und reduziertem Clorsilber im Hellen und Dunkeln.

a u. b direktes Sonnenlicht, a nicht reduz., b reduz., c u. d Dunkelkammer, c nicht reduz., d reduziert.



frischer Silberlösung angesetzt wird; in letzterer ist also sicher nicht reduziertes Silbersalz wirksam. Das Ergebnis war das aus Fig. 2. a. deutlich ersichtliche: Das reduzierte Silbersalz ist in direktem Tageslicht weniger wirksam, als das nicht reduzierte. Also spielt der Reduktionsvorgang eine deutliche Rolle. Derselbe Vorgang kann auch die Differenz der Kurven c. und d. im Dunkeln horvorrufen. Hier wäre eine Reduktion des Chlorsilbers durch die vorhandene organische Substanz, die Paramaecien, denkbar. Eine andere Möglichkeit wäre die, daß der verminderte Chlorsilbergehalt die Differenz zwischen a. und b., zwischen c. und d. bedingte. Was aber ganz unzweideutig aus den Kurven a. bis d. hervorgeht, ist die Tatsache, daß die chemischen Umsetzungen es durchaus nicht allein sind, welche die Differenz der Ag. Cl. Wirkung im Hellen und Dunkeln ausmachen, sondern daß das Licht, als solches, ein wesentlicher Faktor der Abtötung bei Gegenwart von fein verteiltem Chlorsilber oder Silber ist. Dies geht vor allem hervor aus der Differenz zwischen Kurven b. und d. In den beiden entsprechenden Schalenreihen ist das Ag. Cl. reduziert vor Zusatz der Kultur und der Unterschied der Wirkung ist nur durch die Lichtdifferenz erklärbar.

Wenden wir uns nun zu unserer Hauptaufgabe, den Kombinationsversuchen, und zwar zunächst zu denen mit Methylenblau und Silbernitrat. Die im folgenden beschriebenen Versuche sind alle in der Dunkelkammer ausgeführt bei Beleuchtung mit der Nernstlampe.

Absteigende Siibernitratmenge kombiniert mit unwirksamer Farbstoffmenge.

Am einfachsten und scheinbar eklatantesten war folgende Versuchsanordnung. In einem Paralleversuch a. (Fig. 3.) wurden zwei Schalenreihen von je 10 Schälchen mit je 10 absteigenden Konzentrationen passender Silber-

nitratverdünnungen versehen, wie sie auf Fig. 3 mit den absoluten Werten ihres Giftgehaltes angegeben sind. Zur zweiten Schalenreihe wurden je zwei Tropfen Methylenblau 1 : 1000 zugetropft, eine Giftmenge, welche sich durch viele Versuche, als eine in drei Stunden unwirksame herausgestellt hatte. Nach der Ergänzung mit Wasser zu gleichen Tropfenzahlen und gutem Umschütteln wird wieder unter sorgfältigem Schütteln jedem Schälchen vier Tropfen Kultur zugesetzt und beide Schalenreihen unter dem Mikroskop beobachtet. Das Plus der für sich allein unwirksamen Methylenblaudosis veranlaßt, wie aus der Kurve b. auf Tafel 2. ersichtlich ist, eine bedeutende Abkürzung der Abtötungszeit. So sehen wir wie bei der Kurve a., der reinen Silbernitratkurve die Abtötung bei sechs Tropfen 1 : 1,000.000 = 36×10^{-8} g. in einer Stunde 50 Minuten erfolgt, während bei dem Plus der Methylenblaudosis die Kurve b. eine Abtötungszeit von 15 Minuten aufweißt, also eine vierfache Wirkung.

Absteigende Farbstoffmengen kombniert mit konstanter unwirksamer Silbernitratmenge. Noch deutlicher ist die Wirkungssteigerung bei dem Zusatz an und für sich unwirksamer Methylenblaumenge zu absteigenden Silberdosen (Fig. 4). Der Versuch ist in der entsprechenden Weise ausgeführt wie der vorhergehende. Zwei Schalenreihen erhielten dieselben absteigenden Methylblaumengen, die zu gleichen Tropfenzahlen ergänzt wurden; die zweite Reihe erhielt dazu 4 Tropfen Silbernitrat 1 : 1000.000, eine im Verlauf von 3 Stunden allein unwirksame Giftmenge. Darnach wurde die Kultur zugesetzt. Die Differenz der beiden Kurven a. und b. ist eine sehr beträchtliche. Z. B. vier Tropfen Methylenblau 1 : 1000 = 24×10^{-5} g. töten die Paramaecien in einer Stunde 10 Minuten ab, während dieselbe Giftmenge mit einer allein unwirksamen Silbernitratmenge kombiniert in 5 Minuten abtötet, also eine

Fig. 3.

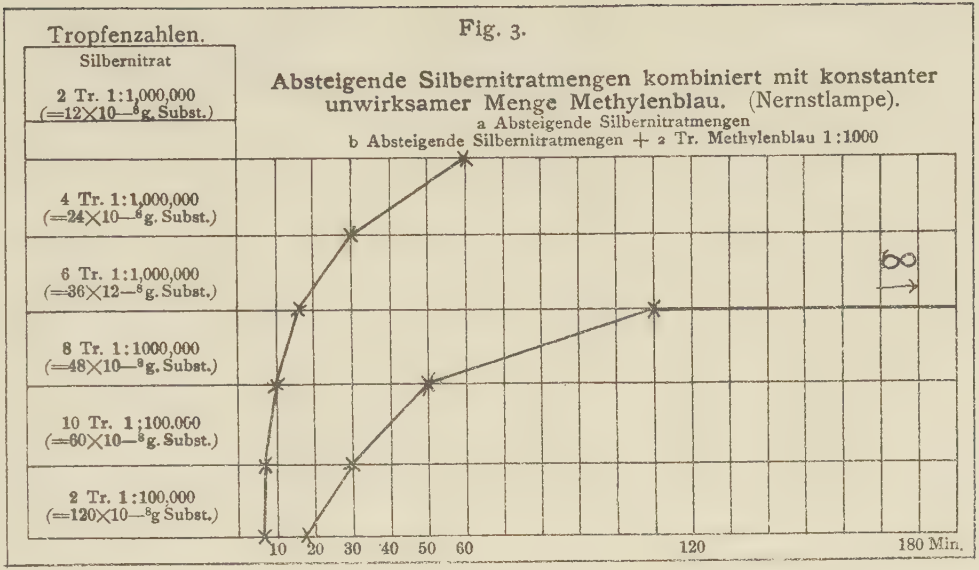
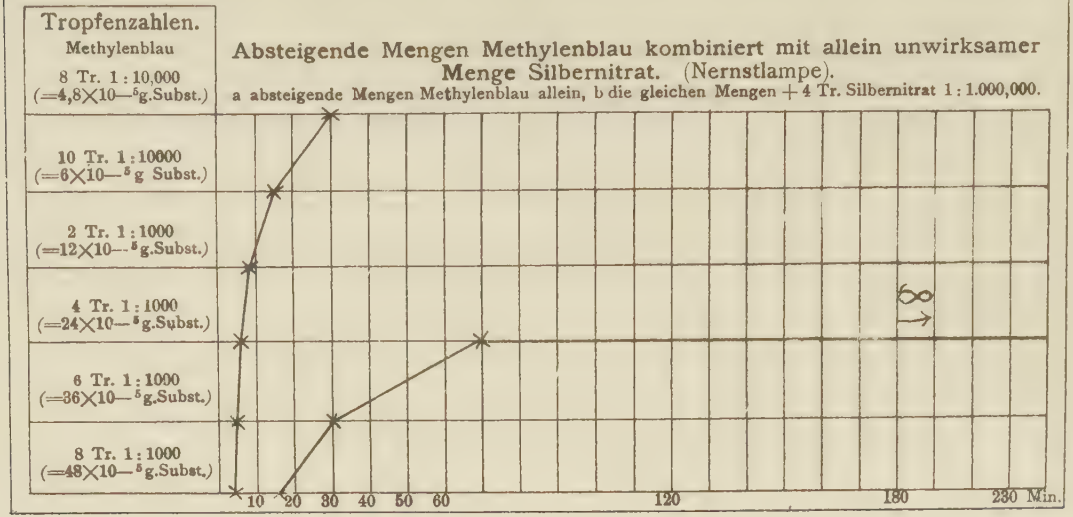

Tropfenzahlen.
Silbernitrat
2 Tr. 1:1,000,000 (=12×10—8g. Subst.)
4 Tr. 1:1,000,000 (=24×10—8g. Subst.)
6 Tr. 1:1,000,000 (=36×12—8g. Subst.)
8 Tr. 1:1000,000 (=48×10—8g. Subst.)
10 Tr. 1:100.000 (=60×10—8g. Subst.)
2 Tr. 1:100.000 (=120×10—8g Subst.)
Absteigende Silbernitratmengen kombiniert mit konstanter unwirksamer Menge Methylenblau. (Nernstlampe).
a Absteigende Silbernitratmengen
b Absteigende Silbernitratmengen + 2 Tr. Methylenblau 1:1000
∞
10 20 30 40 50 60 120 180 Min.

Fig. 4.


Tropfenzahlen.
Methylenblau
8 Tr. 1 : 10,000 (=4,8×10—5g.Subst.)
10 Tr. 1 : 10000 (=6×10—5 g Subst.)
2 Tr. 1 : 1000 (=12×10—5g.Subst.)
4 Tr. 1 : 1000 (=24×10—5g.Subst.)
6 Tr. 1 : 1000 (=36×10—5g.Subst.)
8 Tr. 1 : 1000 (=48×10—5g.Subst.)
Absteigende Mengen Methylenblau kombiniert mit allein unwirksamer Menge Silbernitrat. (Nernstlampe).
a absteigende Mengen Methylenblau allein, b die gleichen Mengen + 4 Tr. Silbernitrat 1 : 1.000,000.
10 20 30 40 50 60 120 180 230 Min.

14-fache Wirkung. Bei den letzten fünf Punkten der Kurve ist die Differenz der Abtötungszeiten unendlich. Die Kurven von Fig. 2 und 3 entsprechen den Mittelwerten einer größeren Anzahl von sehr gleichmäßig verlaufenen Versuchen.

Die beiden obigen Versuche wurden auch in der Weise ausgeführt, daß die zuerst eingefüllte Kultur mit der unwirksamen kleinen Giftmenge (Methylenblau resp. Silbernitrat) vorbehandelt wurde. Nach 10 bis 20 Minuten langer Einwirkung dieser entsprechend kleiner als bei Versuch a. und b. gewählten Giftmenge, erfolgte zuerst Zusatz der Ergänzungstropfen und dann unter jeweiligen Umschütteln der Zusatz der absteigenden Giftdosen. Die so erhaltenen Kurven ergaben keine große Differenz zu den auf Fig. 3 und 4 abgebildeten, wo die Giftmengen vor Zusatz der Kultur gemischt wurden.

Die obigen Kurven verlangen aber noch einige Kritik. Die Kurven der isolierten und combinierten Vergiftung so neben einander zu setzen wäre eigentlich nur erlaubt, wenn die zugesetzte unwirksame Giftmenge wirklich durchaus indifferent für die Paramaecien wäre. Wenn wir auch, wie in einem Kontrollschälchen, das die als unwirksam angenommene Giftmenge enthielt, immer wieder festgestellt wurde, während der Versuchsdauer keine Vergiftungserscheinungen bei den Paramaecien bemerkten, so ist die Indifferenz dieser Giftmenge damit doch nocht nicht bewiesen, wenn wir unter dem Mikroskop nichts von einer Wirkung bemerken. Ein Plus von Gift haben die Tiere jedenfalls erhalten, wenn auch die hochgradige Wirkungssteigerung sicher mehr als eine einfache Addition ist. Aber wir möchten diesen Versuchen doch weniger Wert zumessen, als den im folgenden zu beschreibenden Kombinationsversuchen.

Die Wirkung von Methylenblau und Silberdosen verglichen mit der Wirkung der Com-

bination ihrer halben Mengen. Es wurde zunächst durch eine Reihe von Versuchen ermittelt, welche gleichmäßig absteigende Methylenblaumengen eine ähnliche Abtötungskurve ergeben, wie ebenso gleichmäßig absteigende Silbernitratverdünnungen. Nachdem dies erreicht, wurden drei Reihen von Schälchen in folgender Weise angesetzt: Die erste Reihe a. erhielt gerade Tropfenzahlen passender Methylenblauverdünnungen, die Reihe b. erhielt eine in der Wirkung möglichst gleiche Reihe gerader Tropfenzahlen von Silbernitratverdünnungen und von der Schalenreihe c. erhielt jedes Schälchen die Hälfte der Tropfen der Reihe a. und b.

Das Ergänzungswasser wurde zugesetzt und dann bei den niederen Kombinationen beginnend die Kultur zugetropft. Das Ergebnis demonstriert Fig. 5. a. ist die Methylenblaukurve, b. die Silbernitratkurve, c. die Combinationskurve der halben Giftmengen von a. und b. Handelte es sich um einfache Addition, so müßte die Kurve c. genau in der Mitte zwischen a. und b. verlaufen. Wir haben aber eine deutliche Potenzierung der Wirkung. Während z. B. 4 Tropfen Methylenblau 1 : 1000 (24×10^{-6} g. Subst.) und 6 Tropfen Silbernitrat 1 : 1,000.000 ($= 36 \times 10^{-8}$ g.) jeweils einzeln in einer Stunde abtöten, ist die Kombination von 2 Tropfen derselben Methylenblaulösung ($= 12 \times 10^{-6}$ g.) und 3 Tropfen derselben Silbernitratverdünnung ($= 18 \times 10^{-6}$ g.) in 35 Min. wirksam. Diese Halbierung der Abtötungszeit ist die maximale Potenzierung der Wirkung bei der Methylenblau-Silberkombination. Oder vergleichen wir besser gleich wirksame absolute Mengen (3 Punkte von gleicher Abscisse). In 30—35 Minuten töten ab:

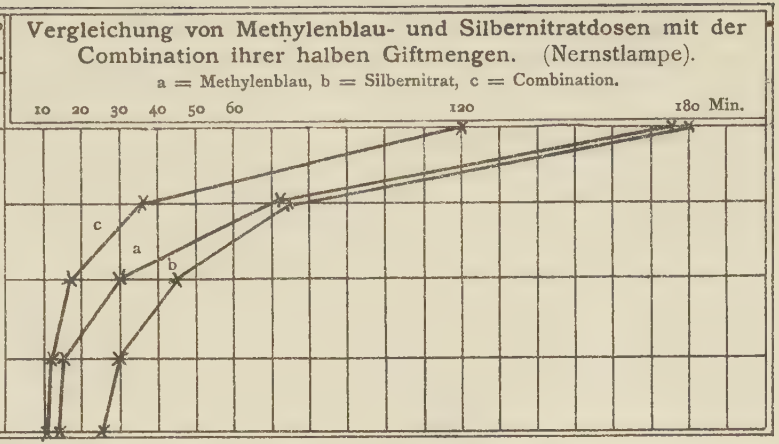
36×10^{-5} g. Methylenblau und 60×10^{-8} g. Silbernitrat, bei der Kombination:

12×10^{-8} g. Methylenblau und 18×10^{-5} g. Silbernitrat.

Tropfenzahlen.

Fig. 5.

Methylenblau (Lös. a)	Silbernitrat (Lös. b)	Lös. a + Lös. b
2 Tr. 1 : 1000 (=12 × 10⁻⁵ g. Subst.)	4 Tr. 1 : 1,000,000 (=24 × 10⁻⁸ g. Subst.)	1 Tr. + 2 Tr.
4 Tr. 1 : 1000 (=24 × 10⁻⁵ g. Subst.)	6 Tr. 1 : 1,000,000 (=36 × 10⁻⁸ g. Subst.)	2 Tr. + 3 Tr.
6 Tr. 1 : 1000 (=36 × 10⁻⁵ g. Subst.)	8 Tr. 1 : 1,000,000 (=48 × 10⁻⁸ g. Subst.)	3 Tr. + 4 Tr.
8 Tr. 1 : 1000 (=48 × 10⁻⁵ g. Subst.)	10 Tr. 1 : 1,000,000 (=60 × 10⁻⁸ g. Subst.)	4 Tr. + 5 Tr.
10 Tr. 1 : 1000 (=60 × 10⁻⁵ g. Subst.)	2 Tr. 1 : 1,000,000 (=120 × 10⁻⁸ g. Subs.)	5 Tr. + 6 Tr.



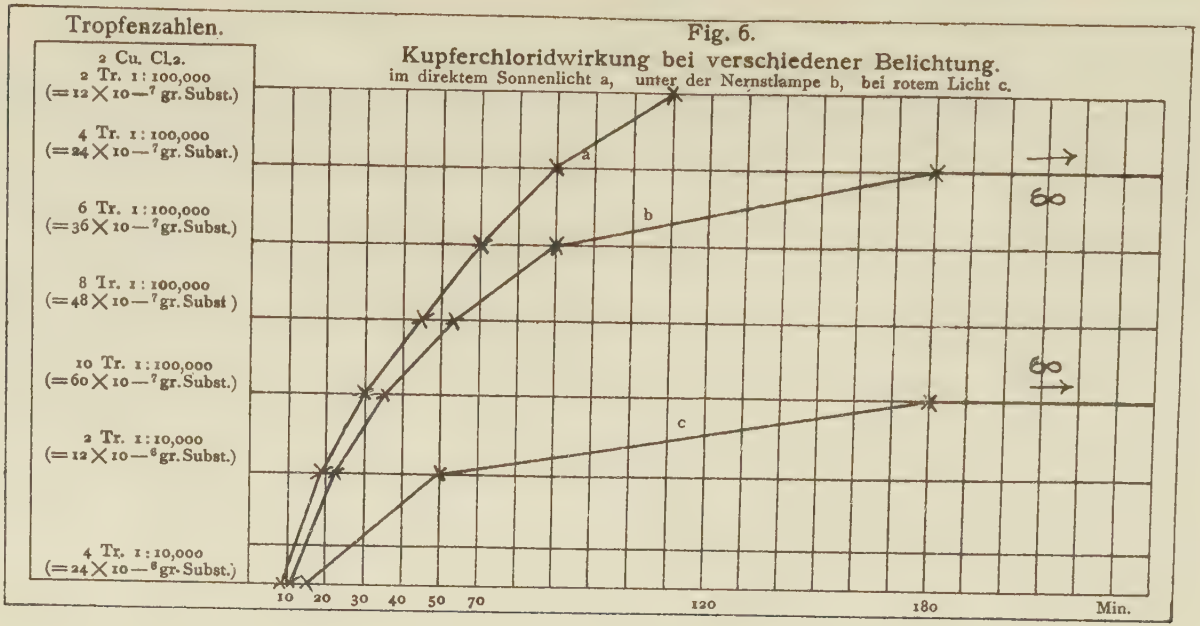
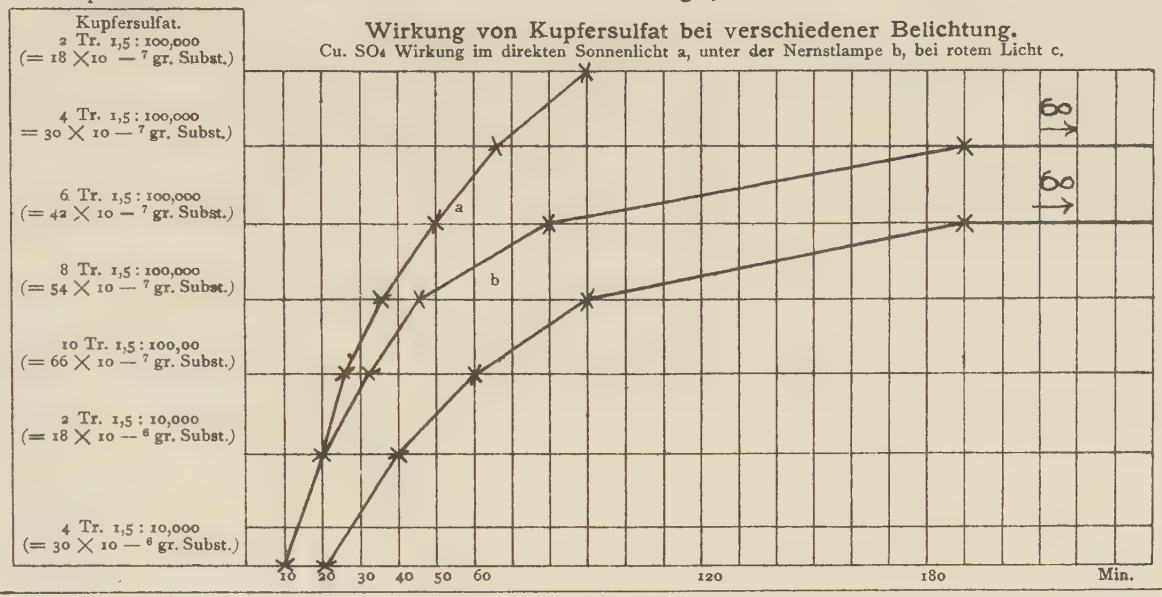


Fig. 6.

Kupferchloridwirkung bei verschiedener Belichtung.

im direktem Sonnenlicht a, unter der Nernstlampe b, bei rotem Licht c.

Fig. 7.


Tropfenzahlen.
Kupfersulfat.
2 Tr. 1,5 : 100,000
(= 18 × 10 — 7 gr. Subst.)
4 Tr. 1,5 : 100,000
= 30 × 10 — 7 gr. Subst.)
6 Tr. 1,5 : 100,000
(= 42 × 10 — 7 gr. Subst.)
8 Tr. 1,5 : 100,000
(= 54 × 10 — 7 gr. Subst.)
10 Tr. 1,5 : 100,00
(= 66 × 10 — 7 gr. Subst.)
2 Tr. 1,5 : 10,000
(= 18 × 10 — 6 gr. Subst.)
4 Tr. 1,5 : 10,000
(= 30 × 10 — 6 gr. Subst.)
Wirkung von Kupfersulfat bei verschiedener Belichtung.
Cu. SO4 Wirkung im direkten Sonnenlicht a, unter der Nernstlampe b, bei rotem Licht c.
a
b
60
60
10
20
30
40
50
60
120
180
Min.

Also 36 Gift a. und 60 Gift b. wird ebenso wirksam wie

$12 + 18 = 30$ Gift a + b. Hätten wir eine einfache Addition, so wären bei der Kombination

$\frac{36 + 60}{2} = 48$ zur gleichen Wirkung nötig, wie bei der isolierten Vergiftung mit 36 Methylenblau und 60 Silbernitrat. Die Kombination ist also

$\frac{48}{30} = 1{,}6$ mal giftiger als die isolierte Vergiftung, oder wir sparen rund 36 % Gift. Bei anderen Versuchen bei denen die Kurven a. und b. weiter auseinander lagen, ging die Kurve c zwischen beiden, aber sehr viel näher bei der vorderen Methylenblaukurve, sodaß auch dies einem Synergismus beider Mittel entsprach.

Versuche mit Methylenblau-Silber und mit einem Gemisch von Methylenblaunitrat und Silbernitrat[1]). Das Methylenblau-Silber (Merck) stellt eine lockere molekulare Verbindung von Methylenblaunitrat und Silbernitrat dar und enthält wie die von uns geprüfte Mischung beider Substanzen in molekularen Mengen ca. 20 % Ag. Die Wirkung beider Präparate war eine sehr intensive. Wir mußten um brauchbare Kurven zu bekommen, zu denselben Verdünnungen

1 : 100,000 und

1 : 1000,000

herabsteigen, wie bei Silbernitrat. Es schien deshalb vor allem das enthaltene Silber das wirksame Agens zu sein. Um zu entscheiden, ob die enthaltene geringe Farbstoffmenge eine Steigerung der Wirkung herbeiführte, stellten wir uns Silbernitratverdünnungen her, welche die gleichen Mengen Silber enthielten, wie die beiden Merck'schen Präparate. Die drei Mittel, Silbernitrat, Methylenblausilber und Ge-

[1]) Die Präparate wurden von der chemischen Fabrik E. Merck, Darmstadt gütigst überlassen.

misch ergaben völlig parallele Kurven, d. h. die Verdünnungen, die wir bei unseren Versuchen benötigten, enthielten so wenig Farbstoff, daß eine Wirkungssteigerung durch diesen nicht mehr erfolgte. Wir hatten es hier nur mit der Silberwirkung zu tun.

III. Die kombinierte Wirkung von Kupfer und Methylenblau.

Außer Silber prüften wir noch zwei Kupfersalze, Kupferchlorid und Kupfersulfat zusammen mit Methylenblau in ihrer Wirkung auf Paramaecien, da auch das Kupfer, wie eingangs erwähnt, in neuerer Zeit therapeutische Verwendung findet. (Bei der Prüfung der komplexen Verbindung Kupferkaliumtartarat erhielten wir keine regelmäßig ansteigende Kurven, weshalb wir von weiteren Versuchen mit dieser Substanz Abstand nahmen. Auch waren zu hohe Konzentrationen nötig zur Abtötung).

Kupferwirkung bei verschiedener Belichtung. Die Entdeckung des Lichteinflußes bei Silbernitrat veranlaßte uns auch die beiden verwendeten Kupfersalze daraufhin zu untersuchen. Wie bei dem Silber wurde unter sonst gleichen Bedingungen ein Parallelversuch in direktem Sonnenlicht, unter der Nernstlampe und bei rotem Licht ausgeführt. Das Resultat ist bei Kupferchlorid aus Fig. 6, bei Kupfersulfat aus Fig. 7, ersichtlich. Wir sehen wie bei beiden Kupferlösungen die Belichtung von hohem Einfluß auf ihre Toxicität ist. So töten z. B. 6 Tropfen (36×10^{-8} g. Kupferchlorid 1 : 100,000 bei direktem Sonnenlicht in einer Stunde, unter der Nernstlampe in 1 St. 20 Min. und sind bei rotem Licht unwirksam. So zeigte sich die Wirkung aller Substanzen, die wir auf die Infusorien einwirken ließen, von der Beleuchtung

abhängig und es ist wohl anzunehmen, daß sich noch eine Reihe anderer Mittel finden läßt, die denselben Befund bieten. Dies zu untersuchen lag aber nicht im Rahmen unserer Arbeit.

Vergleich von Kupferclorid und Kupfersulfat. Eine weitere theoretische Vorfrage, die uns interessierte, war die, ob es sich bei der Wirkung unserer neutralen Salze auf die Infusorien hauptsächlich um die Wirkung des Kations handelt, oder ob auch das Anion eine Rolle spielt. Wir konnten dies dadurch feststellen, daß wir von beiden verwendeten Kupfersalzen aequimolekulare Mengen in gleichen Tropfenzahlen in einem Parallelversuch einwirken ließen. Wir erhielten völlig parallele Kurven, d. h. für die Wirkung ist vor allem das Cu-Kation maßgebend, während das verschiedene Anion in den angewandten Konzentrationen offenbar nicht mehr zur Geltung kommt.

Die Frage des Synergismus des Kupfers mit Methylenblau haben wir in derselben Weise untersucht, wie bei Silbernitrat. Ich kann mich daher in der Beschreibung der Versuche kurz fassen.

Es wurden zunächst wieder absteigende Kupfermengen kombiniert mit konstanter unwirksamer Menge Methylenblau untersucht. Es zeigte sich die auch sonst bekannte Überlegenheit des weniger edlen Kupfermetalls gegenüber dem Silber. Auf Fig. 8 zeigt die Kurve a. die Wirkung der absteigenden Kupferchloridmengen, die Kurve b. die Wirkung einer Kombination derselben Mengen mit je 4 Tropfen Methylenblau 1 : 10,000 (gleich dem dritten Teil der ersten wirksamen Dosis). Vergleichen wir wieder Punkte gleicher Ordinate, so sehen wir wie bei jeder untersuchten Konzentration die Abtötungszeit durch Zusatz der allein unwirksamen Methylenblaumenge erheblich abgekürzt wird und eine ganze Reihe allein unwirksamer Kupferchloriddosen durch

Zusatz der unwirksamen Methylenblaumenge noch wirksam wird. Die ganz entsprechend gewonnenen Kurven von Kupfersulfat (Fig. 9.) zeigen dieselbe Steigerung der Wirkung, oder besser lassen sie vermuten, insofern wir dieser Versuchsanordnung nur einen orientierenden Wert zuerkennen.

Umgekehrt wurden auch absteigende Methylenblaumengen mit konstanter unwirksamer Menge Kupferchlorid (Fig. 10.) und Kupfersulfat (Fig. 11.) kombiniert. Die Kupfermenge betrug jedesmal ¼ der ersten (in drei Stunden) wirksamen Menge. Die Kurven sind in derselben Weise zu lesen wie in Fig. 9 u. 10 durch Vergleich von Punkten gleicher Ordinate. Diesmal erscheint die Steigerung durch Kupfersulfat noch als eine erheblich stärkere als die durch Kupferchlorid.

Die Vergleichung der Wirkung von Kupfersalzen und Methylenblau mit der Wirkung der Kombination der halben Mengen beider Substanzen ist in ihren Resultaten in Fig. 12 (Kupferchlorid) und 13 (Kupfersulfat) wiedergegeben. Wir sehen in beiden Fällen eine erhebliche Wirkungspotenzierung bei den Kombinationen und zwar fast dieselbe beim Chlorid wie beim Sulfat, beidesmal eine erheblich stärkere als früher beim Silber. Fig. 12 zeigt uns wie z. B. 10 Tropfen einer Kupferchloridverdünnung 1 : 1,000,000 ($= 60 \times 10^{-7}$ g.) und 4 Tropfen einer Methylenblauverdünnung 1 : 1,000 ($= 24 \times 10^{-5}$ g.) in etwa einer Stunde abtöten, während die Kombination der halben Mengen von 5 Tr. derselben Kupferverdünnung ($= 30 \times 10^{-7}$ g.) mit 2 Tr. derselben Methylenblauverdünnung ($= 12 \times 10^{-5}$ g.) in 11 Minuten abtöten, also etwa in dem sechsten Teil der Zeit. Bei dem Vergleich des nächst höheren Verdünnungsgrades sehen wir wie Metall- und Farbstoffverdünnung einzeln in 2½ —3 Stunden abtöten, während die Kombination

Fig. 8.

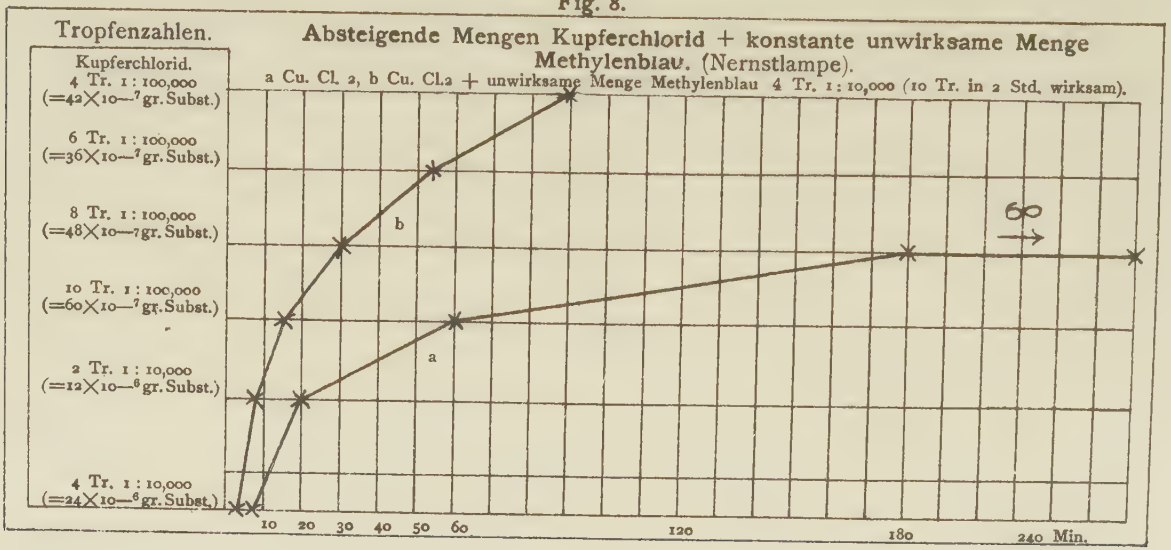
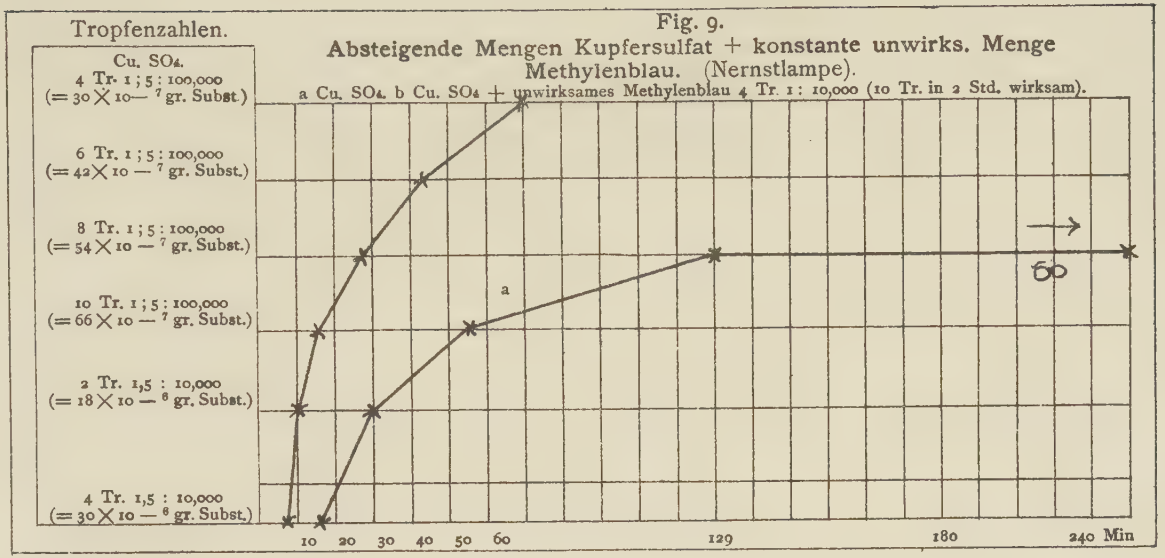

Tropfenzahlen.
Absteigende Mengen Kupferchlorid + konstante unwirksame Menge Methylenblau. (Nernstlampe).
a Cu. Cl. 2, b Cu. Cl.2 + unwirksame Menge Methylenblau 4 Tr. 1 : 10,000 (10 Tr. in 2 Std. wirksam).
Kupferchlorid.
4 Tr. 1 : 100,000 (=42×10—7 gr. Subst.)
6 Tr. 1 : 100,000 (=36×10—7 gr. Subst.)
8 Tr. 1 : 100,000 (=48×10—7 gr. Subst.)
10 Tr. 1 : 100,000 (=60×10—7 gr. Subst.)
2 Tr. 1 : 10,000 (=12×10—6 gr. Subst.)
4 Tr. 1 : 10,000 (=24×10—6 gr. Subst.)
b
a
60
10 20 30 40 50 60 120 180 240 Min.

Fig. 9.

Absteigende Mengen Kupfersulfat + konstante unwirks. Menge Methylenblau. (Nernstlampe).



ihrer halben Mengen dies in 35 Min. erreichen, also in 1/5. — 1/6. der Zeit. Die Differenz der Abtötungszeit der isolierten Giftdosen einerseits und der Kombination ihrer halben Mengen andererseits wird allmählich gegen die stärkeren Verdünnungen zu, wie wir aus den Kurven sehen, immer größer und wird schließlich unendlich groß, d. h. die Kombination der Hälften zweier unwirksamer Mengen ist noch wirksam: 10 Tr. Methylenblau 1 : 10,000 ($=6\times10^{-5}$g.) u. 6 Tr. Kupferchl. 1 : 100,000 ($=36\times10^{-7}$g.) sind beide während der Versuchsdauer 5 Stunden unwirksam, während die Kombination ihrer halben Mengen noch in einer Stunde abtötet.

Wie wir hier Punkte von gleicher Ordinate verglichen haben, so können wir auch Punkte von gleicher Abszisse miteinander vergleichen. Nehmen wir diesmal statt der Tropfenzahlen die in den Figuren ebenfalls angegebenen absoluten Giftmengen:

60×10^{-7} g. Cu. Cl. 2 und 24×10^{-5} g. Methylenblau sind ebenso wirksam wie

18×10^{-7} g. Cu. Cl. 2 und 24×10^{-5} g. Methylenblau, d. h. sie töten die Pharamaecien etwa in einer Stunde ab.

Oder nehmen wir drei andere Punkte:

120×10^{-7} g. Cu. Cl. 2 und 36×10^{-5} g. Methylenblau sind ebenso wirksam wie

24×10^{-7} g. Cu. Cl. 2 und 6×10^{-5} g. d. h. sie sind für Paramaecien in 30—35 Stunden tötlich. Also 120 Gift a. und 36 Gift b. töten in gleicher Zeit ab wie 24 + 6 Gift a + b. Hätten wir eine einfache Addition, so wären bei der Kombination (120 + 36) : 2 = 78 Gift a + b zur gleichen Wirkung nötig. Wir brauchen aber bei der Kombination 32, also weniger als die halbe Giftmenge. In dem vorhergehenden Beispiel brauchen wir bei der Kombination 18 + 3 = 21 gegenüber (60 + 24) : 2 = 42, die bei einfacher Addition nötig wären. Wir sparen hier genau die halbe Giftmenge.

Genau wie hier sind auch entsprechende Punkte der 3 Kurven für Kupfersulfat auf Fig. 13 zu vergleichen. Die Wirkungspotenzierung bei der Kombination zeigt denselben Grad.

Erwähnt sei noch, daß die sämtlichen Versuche jeweils häufig wiederholt wurden und die angegebenen Werte ungefähr den Mittelwerten der jeweiligen Versuchsreihe entsprechen.

Zum Schlusse möchte ich noch die Wirkungsintensität der verschiedenen Substanzen jede für sich allein nebeneinanderstellen.

Aus den bei den verschiedenen Substanzen durch häufige Versuche gewonnen Kurven (die jeweils Mittelwerte repräsentieren,) können wir in gleicher Zeit wirksame Mengen herausgreifen und vergleichen, da alle Versuche unter constanter Belichtung durch die Nernstlampe ausgeführt sind. Dabei ergiebt sich, daß in etwa einer Stunde folgende Giftmengen: $2{,}4 \times 10^{-4}$ g. Methylenblau, 6×10^{-6} g. Kupferchlorid und $3{,}6 \times 10^{-7}$ g. Silbernitrat in gleicher Flüssigkeitsmenge eine gleiche Kulturmenge abtöten. D. h. 1 Teil Silbernitrat ist ebenso wirksam wie 16 Teile Kupferchlorid wie 666 Teile Methylenblau.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. An Paramäcien wurde bei konstanter Belichtung (Nernstlampe von 1000 Kerzen) quantitativ vergleichend bestimmt, welche Mengen von Methylenblau, Kupferchlorid (-sulfat) und Silbernitrat zur Abtötung der Tiere erforderlich sind. Dabei ergab sich, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen in einer Stunde im Mittel $2{,}4 \cdot 10^{-4}$ g. Methylenblaunitrat, $6 \cdot 10^{-6}$ g. Kupferchlorid u. $3{,}6 \cdot 10^{-7}$ g. Silbernitrat dieselbe Menge Paramäcien abtöten, d. h. daß 1 Teil Silbernitrat so wirksam ist, wie 16 Teile Kupferchlorid und wie 666 Teile Methylenblau.

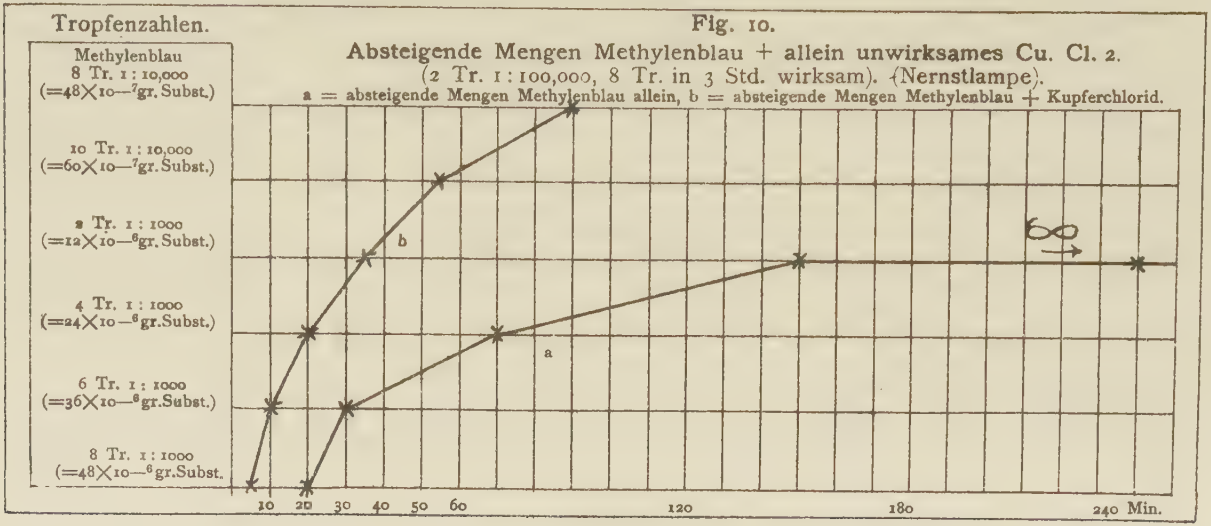


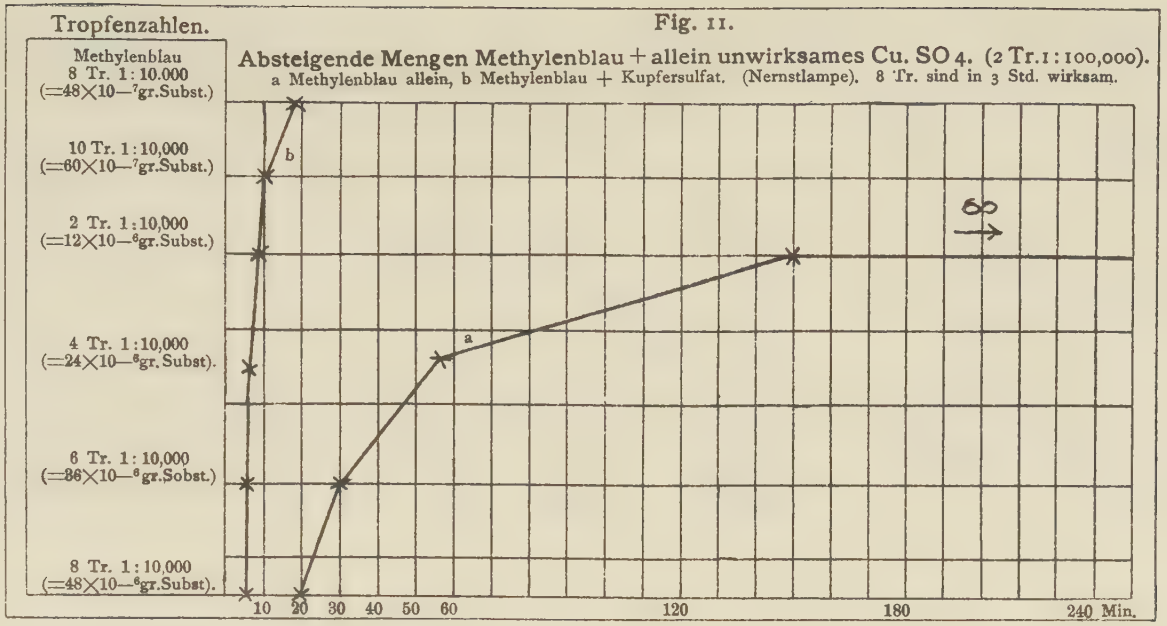
Fig. 10.

Absteigende Mengen Methylenblau + allein unwirksames Cu. Cl. 2.

(2 Tr. 1 : 100,000, 8 Tr. in 3 Std. wirksam). (Nernstlampe).

a = absteigende Mengen Methylenblau allein, b = absteigende Mengen Methylenblau + Kupferchlorid.

Fig. 11.


Tropfenzahlen.
Absteigende Mengen Methylenblau + allein unwirksames Cu. SO 4. (2 Tr. 1 : 100,000).
a Methylenblau allein, b Methylenblau + Kupfersulfat. (Nernstlampe). 8 Tr. sind in 3 Std. wirksam.
Methylenblau
8 Tr. 1 : 10.000
(=48×10—7gr.Subst.)
10 Tr. 1 : 10,000
(=60×10—7gr.Subst.)
2 Tr. 1 : 10,000
(=12×10—6gr.Subst.)
4 Tr. 1 : 10,000
(=24×10—6gr. Subst).
6 Tr. 1 : 10,000
(=36×10—6gr.Sobst.)
8 Tr. 1 : 10,000
(=48×10—6gr.Subst).
b
a
∞
10 20 30 40 50 60 120 180 240 Min.

Tropfenzahlen.

a Cu. Cl. 2 (Lös. a)	Methyleublau (Lösung b)	c Combinat. Lösung a + Lösung b
6 Tr. 1 : 100,000 (=36×10—⁷g.Subst).	10 Tr. 1 : 10,000 (=6×20— ⁵gr. Subst.)	3Tr.+5 Tr.
8 Tr. 1 : 100,000 (=48×10—⁷g.Subst.)	2 Tr. 1 : 1000 (=12×10—⁵gr. Subst.)	4Tr.+1 Tr.
10 Tr. 1 : 100,000 (=60×10—⁷g.Subst.)	4 Tr. 1 : 1000 (=24×10—⁵gr. Subst.)	5Tr.+2 Tr.
2 Tr. 1 : 10,000 (=12×10—⁶g.Subst.)	6 Tr. 1 : 1000 (=36×10—⁵gr. Subst.)	1Tr.+3 Tr.
4 Tr. 1 : 10,000 (=24×10—⁶g.Subst.)	8 Tr. 1 : 1000 (=48×10—⁵gr. Subst.)	2Tr.+4Tr.
6 Tr. 1 : 10,000 (=36×10—⁶g.Subst.)	10 Tr. 1 : 1000 =60×10—⁵gr.) Subst.)	3Tr.+5Tr.

Fig. 12.

Vergleichung von Kupferchlorid und Methylenblau mit der Combination der halben Giftmengen. (Nernstlampe).

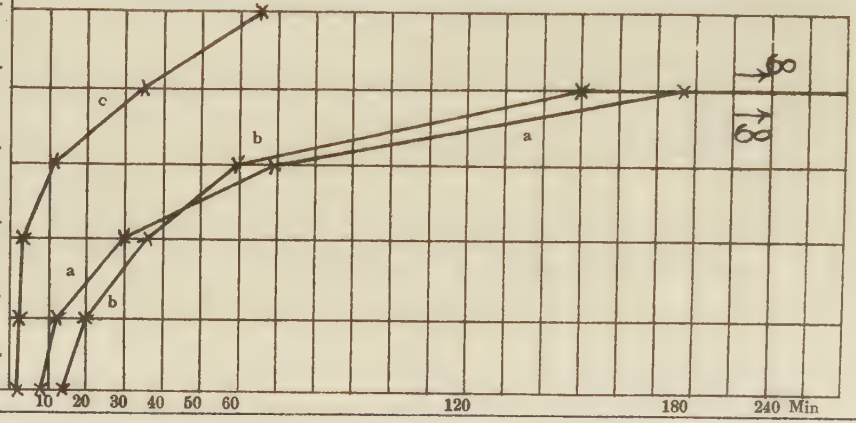
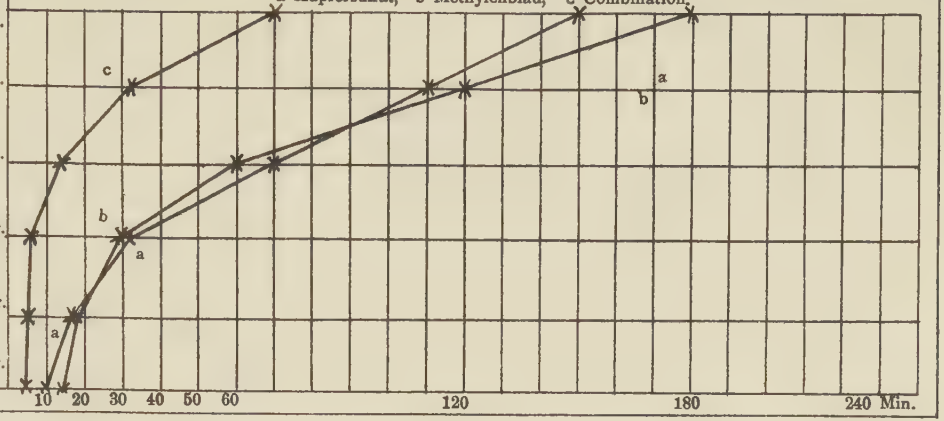


Fig. 13.

Vergleichung von Kupfersulfat und Methylenblau mit der Combination der halben Giftmengen. (Nernstlampe).

a Kupfersulfat, b Methylenblau, c Combination.

Tropfenzahlen.		
a $CuSO_4$ (Lösung a)	b Methylenblau Lösung b.	Comb. von Lösung a + Lösung b
6 Tr 1,5 : 100,000 (=42×10⁻⁷g.Subst).	10 Tr. 1 : 10,000 (=6×10⁻⁵g. Subst.)	3Tr.+5Tr.
8 Tr. 1,5 : 100,000 (=54×10⁻⁷g.Subst.)	2 Tr. 1 : 1000 (=12×10⁻⁵g. Subst.)	4Tr.+1Tr.
10 Tr. 1,5 . 100,000 (=66×10⁻⁷g. Subst.)	4 Tr. 1 : 1000 (=24×10⁻⁵g. Subst.)	5Tr.+2Tr.
2 Tr. 1,5 : 10,000 (=18×10⁻⁶g.Subst.)	6 Tr 1 : 1000 (=36×10⁻⁵g. Subst)	1Tr.+3Tr.
4 Tr. 1,5 : 10,000 (=30×10⁻⁶g.Subst.)	8 Tr. 1 : 1000 (=48×10⁻⁵g. Subst.)	2Tr.+4Tr.
6 Tr. 1,5 : 100,00 (=42×10⁻⁶g.Subst.)	10 Tr. 1 : 1000 (=60×10⁻⁵g. Subst.)	3Tr.+5 Tr.



2. Die in den Versuchen erhaltenen Werte variieren mit der Intensität der Belichtung. Für das Methylenblau und andere „photodynamisch" wirksame Stoffe ist dies bereits bekannt. Aus unseren Versuchen ergibt sich aber, daß auch die Wirkung von Kupfer- und Silbersalzen am schwächsten in der Dunkelheit, stärker im Licht der Nernstlampe, am stärksten bei Tageslicht sich äussert. Beim Silbersalz spielt dabei die Reduktion im Licht eine Rolle. Jedoch ist auch reduzierte Silberlösung im Licht bedeutend wirksamer, als in der Dunkelheit.

3. Bei gleichzeitiger Einwirkung von Silbernitrat (bezw. Silberchlorid) u. Methylenblaunitrat auf Paramäcien läßt sich Wirkungspotenzierung konstatieren. Eine solche ergab sich schon bei Einwirkung von ansteigenden Silbermengen bei konstanter allein unwirksamer Farbstoffmenge, und umgekehrt bei ansteigender Farbstoffmenge und konstanter an sich unwirksamer Silbermenge. Die Wirkungssteigerung konnte aber zahlenmäßig in erster Linie aus Versuchen erschlossen werden, bei denen in drei Parallelreihen wirksame Silbermengen, wirksame Farbstoffmengen und vergleichend jeweils die halben Dosen von ersteren in Mischung geprüft wurden. Dabei ergab sich als maximaler Effekt, daß die Paramäcien in der Mischung in der halben Zeit zu Grunde gingen, in welcher dies in den Einzellösungen geschah.

Zur gleichen Wirkung ist bei der Kombination von beiden Giften zusammen der 1,6te Teil der Giftmenge erforderlich, die wir zu jeder einzelnen Vergiftung benötigen. Oder die Kombination ist 1,6 mal so giftig wie die isolierte Vergiftung.

4. Bei der isolierten Einwirkung von Kupferchlorid (bezw. Kupfersulfat) und Methylenblaunitrat auf Paramaezien ergaben sich gleichsinnige Resultate wie bei Silbersalz und Farbstoff. Bemerkenswert ist aber, daß hier die Wirkungspotenzierung stärkere Grade aufweist.

Bei Vergleichung der Wirkung von Kupfer und Methylenblaudosen mit der Wirkung der Kombination ihrer halben Mengen, zeigte sich bei dieser Abtötung der Tiere schon in 1/5 der Zeit, in welcher derselbe Erfolg sich bei den Komponenten geltend machte. Zur gleichen Wirkung ist von beiden Giften zusammen nur die Hälfte der Giftmenge erforderlich, die wir jeweils zur isolierten Vergiftung benötigen, d. h. bei der Kombination tritt eine Erhöhung der Giftigkeit anf das Doppelte ein.

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Professor Straub für das meiner Arbeit entgegengebrachte freundliche Interesse und Herrn Privadocent Dr. Fühner für seine zahlreichen Anregungen meinen Dank auszusprechen.

Die vorstehende Arbeit wurde im pharmakologischen Institute der Universität Freiburg i. Br. unter Anleitung des Professors und Assistenten Herrn Dr. Fühner in den Monaten Jan. bis März 1914 ausgeführt.

Lebenslauf.

Ich wurde geboren am 18. 2. 1888. als Sohn des Apothekers August Hassencamp in Windecken (Preußen). Im Jahre 1897 zogen meine Eltern nach Freiburg, wo ich das Gymnasium besuchte. Die Abiturientenprüfung bestand ich hier im Sommer 1906. Ich studierte zunächst vier Semester Theologie, darnach Medizin und zwar in Freiburg und München. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich an der hiesigen Universität im Frühjahr 1911, das Staatsexamen im Herbst 1913.